L'azote organique des sols

Exemples de quantification des formes protéiques et des combinaisons complexes

par **Lucile JOCTEUR MONROZIER** et **Francis ANDREUX**

Centre de Pédologie biologique, C.N.R.S.

B.P. 5, 54501 Vandœuvre Cedex

INTRODUCTION.

Tous les travaux qui traitent de l'azote des sols font état de la prédominance des formes organiques (voir notamment les synthèses de BREMNER, 1965 et 1967, ainsi que celles de PARSONS et TINSLEY, 1975). Les formes minérales oxygénées NO_2— et NO_3— apparaissent de façon transitoire, cependant que l'azote ammoniacal NH_4+ peut constituer, dans les horizons minéraux argileux, une fraction non négligeable de l'azote total. ALLISON (1973) signale des taux de l'ordre de 40 à 50 % dans certains horizons profonds.

Mais, dans la partie superficielle, litière et horizons organiques, où se déroulent les phases d'orientation de l'humification et de la minéralisation, l'azote organique représente habituellement plus de 95 % de l'azote total (KICKUTH **et al.**, 1969).

On sait, d'autre part, que la transformation d'humus à partir des débris végétaux s'accompagne d'une concentration relative en azote dans la matière organique, ce que traduit l'abaissement du rapport C/N.

L'azote s'accumule donc sous forme organique, et, d'après les calculs de biomasse vivante (micro-organismes bactériens et fongiques, microfaune), cet azote organique se situerait en majeure partie hors des organismes vivants (ELLENBERG, 1977). Le stockage d'un élément aussi vital pour les synthèses biologiques sous une forme non directement assimilable par la biomasse indique, soit une certaine stabilité des molécules azotées, soit une défaillance des micro-organismes agents de la minéralisation (ALEXANDER, 1965).

Il n'est pas dans notre propos d'aborder ici les modalités de l'activité et du développement des micro-organismes, mais d'examiner la structure et la distribution quantitative des composés organiques azotés des sols, en confrontant les données bibliographiques et nos propres travaux.

Deux méthodes, habituellement utilisées par les pédologues pour l'étude de la matière organique des sols peuvent s'appliquer à la détermination des formes de l'azote organique : l'extraction alcaline et l'hydrolyse acide.

PARASHER et LOWE (1970), DELECOUR (1975), ANDREUX et CORREA (1981) ont montré que l'extractibilité de l'azote dans les réactifs alcalins différait notablement de celle du carbone selon le degré d'humification et le type d'humus. Généralement, dans les débris végétaux peu transformés, l'azote organique est proportionnellement plus soluble que les membranes ligno-cellulosiques ; en revanche, lorsque l'humification croît, l'extractibilité du carbone devient peu à peu dominante (DELECOUR, 1975), alors que l'insolubiblité de l'azote tend à s'accroître, en particulier dans les sols argileux, soumis à de forts contrastes climatiques (ANDREUX et CORREA, 1981).

Pour un sol déterminé, la différence d'extractibilité atteint des valeurs maxima dans les fractions granulométriques les plus fines (ANDREUX et CORREA, 1981). Par conséquent, l'étude des **constituants inextractibles**, ou **humine**, doit être conduite au même titre que celle des composés alcalino-solubles, en vue d'identifier et de quantifier les combinaisons azotées en fonction de leur affinité pour les colloïdes minéraux.

Selon BATSULA et KRUPSKIY (1974), l'azote extractible appartient en majeure partie aux acides humiques, c'est-à-dire aux molécules de plus grandes dimensions, ce qui confirme les travaux de SWIFT et POSNER (1972). La mise en culture entraîne une diminution des teneurs en azote organique par minéralisation ; cette perte est ressentie différemment selon le type de sol, dans les composés humiques et fulviques, et elle correspond à une résistance accrue de ces substances à l'hydrolyse acide.

En fait, la complexité des extraits alcalins, ainsi d'ailleurs que celle de l'humine, ne permet pas d'élucider directement la structure de leurs composants azotés. D'où l'utilisation de l'hydrolyse acide, parallèle ou complémentaire à l'extraction alcaline, et plus adaptée à l'étude des macromolécules azotées.

L'hydrolyse acide, technique dégradative employée pour l'analyse des protéines, se montre globalement beaucoup plus efficace que l'extraction alcaline pour la solubilisation préférentielle des composés organiques azotés du sol (VLASSAK **et al.**, 1969).

De plus, elle permet d'obtenir, à partir des macromolécules, des entités plus simples, et donc plus aisément identifiables. Ainsi, c'est à partir des résultats de l'hydrolyse acide que commence généralement la quantification des différentes formes d'azote organique des sols, soit directement, soit après séparation des composés humiques. Nous nous proposons de mettre en évidence les apports de ces méthodes aux études concernant l'activité biologique et l'humification des sols, et de faire, à cette occasion, le point sur la nature et le rôle de certaines combinaisons complexes et mal connues de l'azote organique.

IDENTIFICATION ET QUANTIFICATION DES COMBINAISONS AZOTEES.

A. — IDENTIFICATION.

1. Hypothèses structurales :

Selon OTTOW (1978) (figure I), l'azote organique est engagé dans quatre structures chimiques majeures : **les amino-acides**, seuls ou associés sous forme de peptides ou de protéines, **les osamines**, qui peuvent également exister sous forme simple ou polymérisée, **l'azote juxtanucléaire** des noyaux aromatiques provenant d'addition d'N aminé ou ammoniacal sur les dérivés polyphénoliques, et enfin, **l'azote hétérocyclique.**

STRUCTURES IDENTIFIABLES

Amino-acides

R - CH - COOH
|
NH_2

Peptides

R - CH - CO - NH - CH - COOH
| |
NH_2 R'

Exemples : R ou R' =

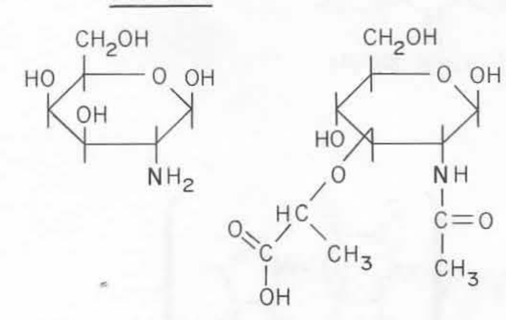
CH_3— : Alanine (neutre)

HO—C₆H₄—CH_2 Tyrosine (Aromatique)

HOOC —CH_2— : Acide aspartique

HC = C — CH_2— : Histidine (Basique)
HN—C(H)—NH

Osamines



N-Acetylglucosamine — Galactosamine — Acide N-Acetylmuramique

Hétérocycles simples

Noyau Porphyrine — Indole — Purine — Pyrimidine

Imidazole

FIGURE I. — *Principales combinaisons organiques azotées des sols. Structures identifiables et suspectées*

Main nitrogenous organic combinations of soils: identified and supposed structures

STRUCTURES SUSPECTÉES

Formes monomères (PIPER et POSNER, 1972)

N. (p.Hydroxyphényl-glycine) $\xrightarrow{-2H^+,\ -2e^-}$ N. (Methylcarboxy-quinonimide) ; N. (p.hydroxyphényl-glutamine)

Formes polymères

Pont azoté simple

Phénoxazine

Mélanine vraie

Allomélanine

Certaines de ces molécules proviennent de synthèses biologiques : amino-acides, hexosamines, certains hétérocycles appartenant aux bases nucléiques (purines et pyrimidines), à la chlorophylle et même à certains amino-acides (histidine, tryptophane, proline). Pour ces produits, des critères d'identification existent, et leur quantification est possible.

D'autres structures, comme les dérivés de substitution azotée des polyphénols, ou les hétérocycles complexes type phénoxazine, résultent de processus de condensation, et sont déduites des mécanismes les plus probables pouvant conduire aux polycondensats humiques. De plus, quantités de formes complexes peuvent dériver de réactions de condensation cétones — composés aminés, comme c'est le cas pour les noyaux imidazole, dont l'existence a été rapportée. Cependant, l'étude structurale de ces différents produits de condensation reste encore peu développée.

2. **Relations entre structures et méthodes d'extraction :**

La nature et l'abondance des composés azotés extraits des sols sont étroitement dépendantes des réactifs et des procédés utilisés. Bien qu'on ne dispose pas de méthode très spécifique, on note le plus souvent que l'impact de l'extractant sur l'azote organique dépend de la polarité des composés porteurs de fonctions azotées.

a) **Extraction alcaline :**

On conçoit que les macromolécules peu polaires soient peu extractibles dans les liqueurs alcalines, au contraire des petites molécules à forte dissociation acide. Le pH du réactif a donc un rôle déterminant : des travaux de BREMNER et LEES (1949), il résulte que NaOH dans l'eau (pH supérieur à 11) est un agent d'extraction de l'azote organique plus efficace que le pyrophosphate de sodium (pH 7). BUTLER et LADD (1969) notent que la matière organique extraite en plus grande quantité à pH plus élevé, est également la plus riche en fonctions α-aminées.

b) **Hydrolyse acide :**

En milieu acide, la solubilisation des composés azotés est facilitée par leur aptitude à former des cations. Si les acides minéraux, utilisés à froid, n'atteignent qu'une faible proportion de l'azote organique, les hydrolyses acides à chaud (généralement par HCl 3N ou 6N) provoquent une rupture des liaisons hétéro-atomiques dans les macromolécules azotées (liaisons ester, éther, amide, peptidique...) ; elles entraînent donc la production de petites molécules plus polaires et solubles.

Dans ces conditions, les rendements d'hydrolyse peuvent atteindre des valeurs élevées. OGNER (1970) parvient à libérer 85 % de l'azote d'un humus brut ; JANEL (communication personnelle) obtient des taux d'azote hydrolysable supérieurs à 90 % à partir d'un chernozem, type de sol réputé pour l'abondance des formes résistantes à l'hydrolyse. En réalité, on verra que les résultats quantitatifs dépendent beaucoup de la méthode utilisée.

Cette dernière influe également sur les résultats qualitatifs : par exemple, les osamines et les amides sont partiellement détruits par les hydrolyses longues (BREMNER, 1965), et donnent un excès d'azote ammoniacal ; la rupture des liaisons peptidiques, au contraire, ne peut être considérée comme quasi totale qu'au bout de 24 à 48 heures. Enfin, les liaisons entre amino-acides et cycles aromatiques sont réputées résistantes aux hydrolyses acides classiques (HAIDER **et al.**, 1965 ; CHESHIRE **et al.**, 1967).

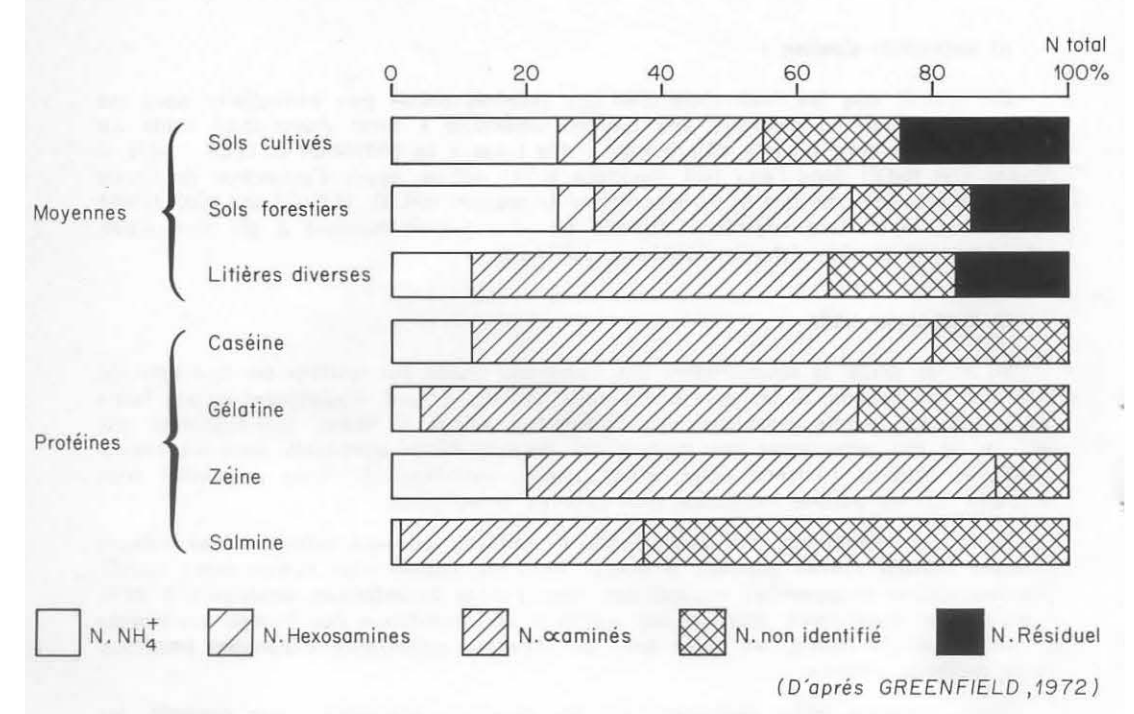
3. **Formes identifiées et non identifiées de l'azote du sol :**

a) **Formes solubilisables :**

Qualitativement, on peut reconnaître dans les hydrolysats des sols et des composés humiques, des amino-acides et des hexosamines (BREMNER, 1965 ; PARSONS et TINSLEY, 1965 ; GREENFIELD, 1972 ; GOH et EDMEADES, 1979) qui contribuent de façon majoritaire à la constitution de l'azote hydrolysable.

Il reste cependant le plus souvent 20 à 30 %, parfois davantage, de structures azotées des hydrolysats dont la nature reste à préciser (FLEIGE **et al.**, 1971 ; SCHNITZER et HINDLE, 1981) ; elles seront désignées ici par les termes d'**azote non identifié.** Pour l'identification de ces structures inconnues, GREENFIELD (1972) fait appel à la constitution des amino-acides : il met en évidence l'abondance d'N non α-aminé de certains amino-acides (lysine, arginine, histidine, proline) et souligne la nécessité d'un dosage individuel des amino-acides pour quantifier l'apport de ces formes d'azote au bilan total (figure II). Il peut ainsi identifier la plus grande partie des structures indéterminées hydrolysables. Cependant, GOH et EDMEADES (1979) montrent qu'un tel calcul ne comble pas totalement les déficits des bilans : l'azote non α-aminé des amino-acides représenterait en effet seulement 10 à 12 % de l'azote organique de divers types de sols.

Une partie de l'azote non identifié des hydrolysats et du résidu d'hydrolyse pourrait provenir d'artefacts réactionnels observés par divers auteurs (STEVENSON, 1960 ; ASAMI et HARA, 1970 ; JAMES, 1972 ; JANEL **et al.**, 1979) ; ainsi, l'hydrolyse acide prolongée de glycoprotéines, de mélanges glucides-protéines, conduit à la formation de



(D'après GREENFIELD, 1972)

FIGURE II. — *Formes de l'azote dans les hydrolysats de sols, litières et protéines témoins*

Forms of Nitrogen in the hydrolysates of soils, litters and test proteins

substances azotées complexes appelées **mélanoïdines.** Elles résultent de réactions de condensation entre les produits de l'hydrolyse des macromolécules osidiques et protéiques, et ne préexistent pas dans le milieu. Il semble que les sols les plus actifs, riches en substances polysaccharidiques et en protéines, soient les plus aptes à produire ce genre de néoformations.

Pour éviter ces artefacts, et augmenter les rendements en composés identifiables, différentes méthodes ont été envisagées. Toutes consistent à remplacer les hydrolyses globales et brutales par des **hydrolyses fractionnées** permettant d'éliminer les produits de coupure à mesure de leur libération. OGNER (1970) procède par étapes successives, d'abord avec un acide dilué à 20 °C, puis progressivement, avec des traitements plus énergiques et plus longs. JANEL **et al.** (1970) utilisent les hydrolyses par HCl 3N à ébullition ; les composés solubilisés au cours des premières heures, et les composés insolubles correspondants sont soumis séparément à une hydrolyse exhaustive de longue durée.

b) **Formes insolubles :**

Pour certains auteurs, **la fraction non hydrolysable** de l'azote organique serait constituée principalement d'azote hétérocyclique : ainsi, FLAIG (1970) estime à 25 % ce type de structure dans les acides humiques, c'est-à-dire la totalité de l'N non hydrolysable. Mais CHESHIRE **et al.** (1967) n'ont pu mettre en évidence, par des méthodes de caractérisation fine, que de très faibles quantités d'hétérocycles azotés dans les résidus d'hydrolyses d'acides humiques, principalement sous forme d'acridine et d'acroléine.

En fait, il est probable que l'essentiel de l'azote résistant à l'hydrolyse acide correspond à des groupements aminés primaires ou secondaires, ou encore à des groupements iminés provenant, selon le cas, de l'addition d'ammoniaque ou de groupements NH_2 libres d'amino-acides et de polypeptides sur les noyaux polyphénoliques, au cours de l'oxydation de ces derniers (HAIDER **et al.**, 1965 ; METCHE et ANDREUX, 1974). Ainsi, PIPER et POSNER (1972) ont vérifié la grande stabilité des N-phénoxy-amino-acides (figure I), tout en notant que les plus labiles d'entre eux (N-hydroxy-phényl-glutamine) pouvaient être séparés par hydrolyse acide oxydante. Cependant, la fraction azotée dite « non hydrolysable » reste encore la plus mal connue.

B. — QUANTIFICATION.

Sans insister sur les techniques de séparation, on peut examiner la répartition des différentes formes d'azote organique, soit directement sur le sol global, soit sur les fractions humiques et l'humine, après **extraction alcaline.**

1. L'azote organique du sol global :

D'après la plupart des auteurs, l'essentiel de l'azote organique du sol se trouve sous forme d'α-amino-acides. BREMNER (1965) fait état de 20 à 40 % de l'azote total. ALDAG et KICKUTH (1973), en comparant des sols forestiers et des sols de prairie, obtiennent des résultats nettement supérieurs (de 41 à 51 %) sans relation avec la végétation.

DECAU (1968) établit une corrélation entre le taux d'azote aminé et le rapport C/N dans les sols vierges non podzolisés : la proportion d'azote aminé dans l'azote total du sol augmente lorsque le C/N croît. Pour des C/N compris entre 15 et 25, l'azote aminé représente 59 % en moyenne de l'azote total, alors que dans des sols bien humifiés, avec un C/N inférieur ou égal à 10, le taux d'azote aminé n'est plus que de 44 %. Cet auteur souligne que dans les sols cultivés, dont le C/N est relativement homogène, les teneurs en azote aminé de la matière organique peuvent s'échelonner entre 56 et 72 % de l'azote total. L'abondance de l'azote attribué aux amino-acides fluctue, comme on pouvait le prévoir, selon les conditions d'activité biologique et l'environnement organo-minéral. JANEL (1978) montre que la teneur en azote α-aminé évolue, pour un sol donné, tout au long de l'année : elle est maximale en hiver, au moment de plus faible activité biologique dans les humus de type mull (74 % de l'azote total dans un mull acide, 42 % dans un mull calcaire).

Si on admet, avec GOH et EDMEADES (1979) que les acides aminés apportent environ 10 % de l'azote non α-aminé, 40 à 80 % de l'azote du sol peuvent être attribués aux amino-acides.

Les hexosamines constituent une fraction beaucoup plus restreinte, entre 5,5 et 7,5 % de l'azote total selon ALDAG et KICKUTH (1973), 3 à 5,5 % pour JANEL (1978). SOWDEN (1968) étudie l'effet de divers amendements sur la répartition quantitative des formes de l'azote organique à l'équilibre : les taux d'azote dus aux hexosamines oscillent très faiblement de 2,6 à 4,1 % de l'azote total. Les valeurs les plus faibles caractérisent les sols sableux, quel que soit le type d'amendement ; la proportion d'azote hexosaminé croît avec le taux d'argile.

Les travaux de GOH et EDMEADES (1979) établissent que des désaminations affectent les hexosamines au cours des hydrolyses, et ils adoptent un facteur de correction qui permet d'estimer que la participation de l'azote hexosaminé atteint 6 à 9,5 % de l'azote total.

Les investigations les plus détaillées s'arrêtent là : certains auteurs ne mentionnent pas la présence de formes d'azote hydrolysable en dehors des amino-acides et des hexosamines. Les bilans de SOWDEN (1968) font pourtant apparaître 21 à 27 %

de l'azote total sous forme non identifiée hydrolysable ; ceux de GOH et EDMEADES (1979) 7 à 15 %, en tenant compte de l'azote non α-aminé des amino-acides. JANEL (1978) fait observer que la proportion d'azote non identifié dans les hydrolysats varie saisonnièrement, et atteint des valeurs maximales au début de l'été (34,7 % dans un mull acide).

Les teneurs en azote non hydrolysable du sol global ne paraissent pas avoir grande signification dans la mesure où elles dépendent essentiellement de modes opératoires. DECAU (1968) observe cependant une croissance de la résistance de l'azote à l'hydrolyse dans les sols à bas C/N.

Par conséquent, la limite des méthodes d'hydrolyse directe vient en grande partie de l'impossibilité d'apprécier l'origine des structures que l'on identifie après destruction quasi complète d'édifices moléculaires, dont on ignore les caractères initiaux (taille, organisation, etc.).

Ces méthodes présentent l'avantage d'une grande simplicité d'emploi et renseignent utilement sur la stabilité chimique des différentes formes d'azote. Cependant, appliquées à un matériau complexe comme le sol, les hydrolyses acides donnent des résultats plus instructifs sur des sous-ensembles déjà fractionnés en fonction de critères d'humification.

2. **L'azote non extractible dans les réactifs alcalins :**

L'humine est particulièrement riche en azote dans les sols argileux et dans les sols à fort contraste humectation-dessiccation (ANDREUX et CORREA, 1981) ; ceci est notamment illustré par le rapport C/N de ce compartiment, généralement inférieur à celui du sol global.

L'hydrolyse acide de l'humine montre clairement que dans de nombreux sols l'azote organique appartient essentiellement à des amino-acides (NGUYEN KHA, 1972)

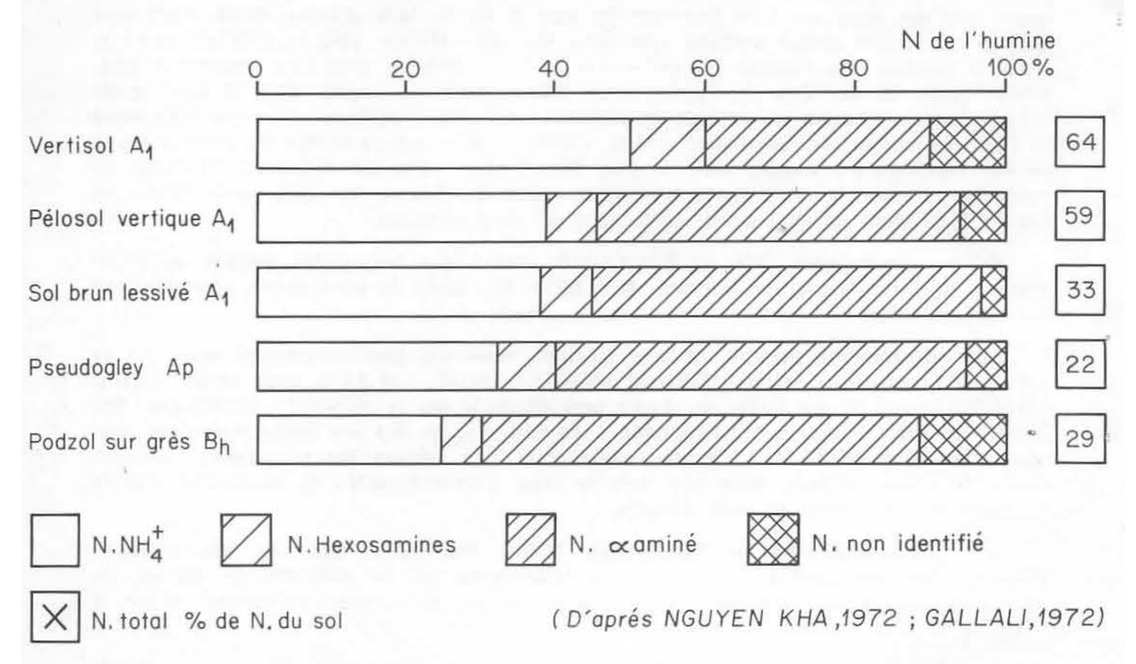


FIGURE III. — *Formes de l'azote dans les hydrolysats d'humines de différents sols*

Forms of Nitrogen in the hydrolysates of humins of different soils

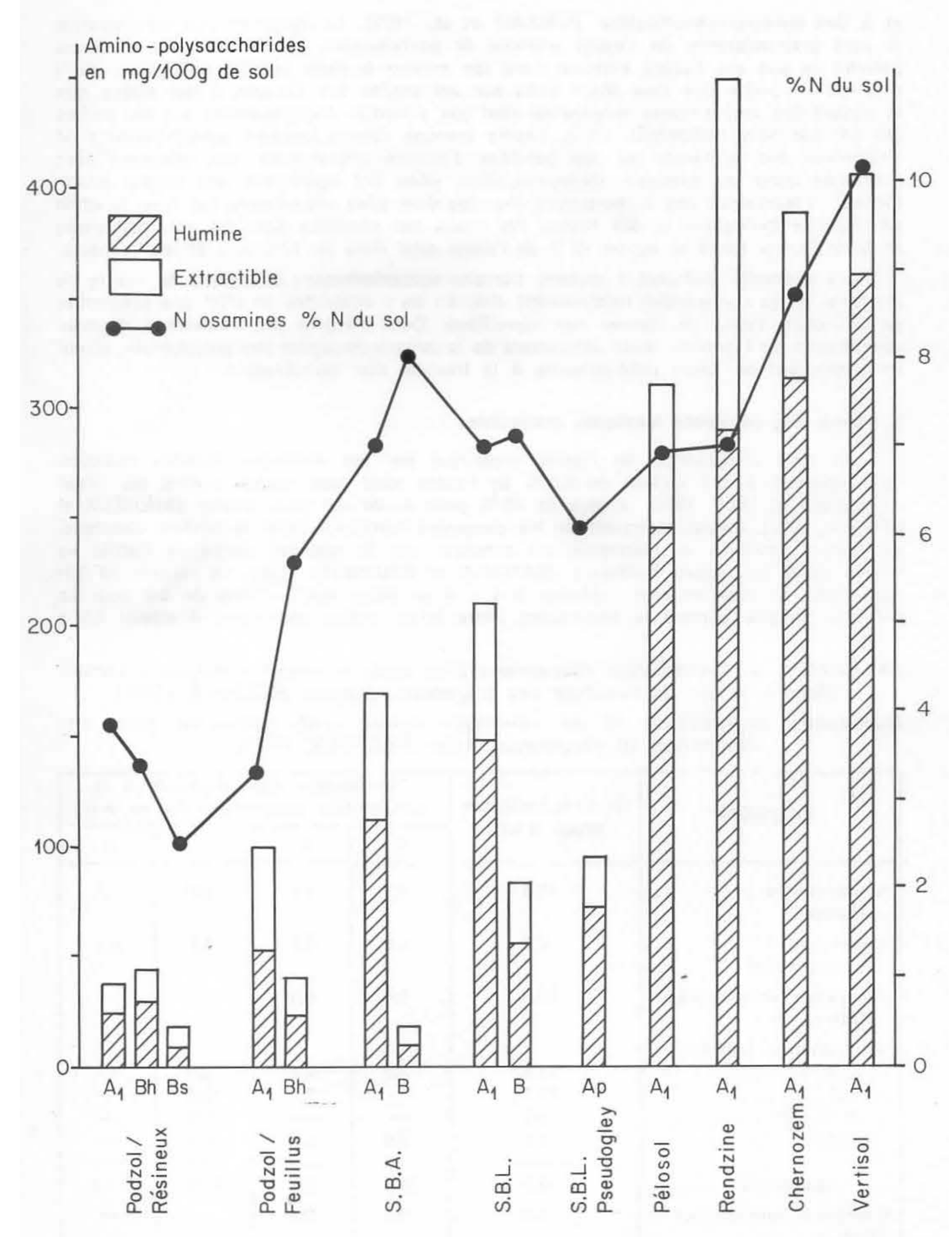


FIGURE IV. — *Répartition des amino-polysaccharides et de leur azote dans différents types de sols et leurs humines. D'après GALLALI* et al., 1972

Distribution of amino-polysaccharides and of their Nitrogen in different types of soils and their humin fraction. After GALLALI et al., 1972

et à des amino-polysaccharides (GALLALI **et al.**, 1972). La figure III met en évidence la part prépondérante de l'azote α-aminé et ammoniacal ; ce dernier peut d'ailleurs prendre le pas sur l'azote α-aminé dans les milieux à forte activité biologique, où il provient en partie des ions NH_4+ fixés sur les argiles 2:1. Comme il est acquis que la plupart des amino-acides simples ne sont pas adsorbés énergiquement sur les argiles aux pH des sols (SIESKIND, 1962), l'azote α-aminé obtenu provient essentiellement de l'hydrolyse des protéines ou des peptides d'origine microbienne. Les osamines sont présentes dans les exsudats racinaires, mais elles ont également une origine microbienne : l'abondance des amino-polysaccharides dont elles proviennent est donc fonction de l'activité biologique du sol (figure IV) : elle est minimale dans les sols podzolisés (1 % de l'azote total) et atteint 10 % de l'azote total dans les Mollisols et les Vertisols.

Ces exemples suffisent à montrer l'origine essentiellement biologique de l'azote de l'humine, et sa composition relativement simple ; on y rencontre en effet une proportion généralement faible de formes non identifiées. Ceci n'écarte pas l'existence d'autres constituants de l'humine, issus notamment de la polycondensation des polyphénols, et qui participeraient de façon prédominante à la fraction non hydrolysable.

3. **L'azote des composés humiques extractibles :**

Les taux d'extraction de l'azote organique par les mélanges alcalins sodiques (pH supérieur à 11) varient de 9,3 % de l'azote total pour un sol cultivé sur limon (BREMNER et LEES, 1949), à plus de 40 % pour A_1 de sol brun lessivé (ANDREUX et CORREA, 1981). Lorsqu'on fractionne les composés humiques selon le schéma classique, en acides fulviques et humiques, on constate que la majeure partie de l'azote se trouve dans les acides humiques (BATSULA et KRUPSKIY, 1974). Le rapport NF/NH sera donc, le plus souvent, inférieur à 1 : il se situe aux environs de 0,2 pour un sol très humifié comme le chernozem, alors qu'en milieu podzolique il atteint 0,5 à

TABLEAU 1. — *Composition élémentaire d'un acide humique « moyen », reconstituée à partir de l'analyse des fragments. D'après FELBECK* (1971)

Elementary composition of an «average» humic acid, calculated from the summation of fragments. After FELBECK (1971)

Fragments	% de la molécule totale d'A.H.	Contribution des fragments à la composition élémentaire (% de A.H.)			
		C	H	O	N
Amino-acides .... (Alanines)	10,5	4,2	0,8	3,8	1,7
Hexosamines .... (Glucosamine)	2,5	1,0	0,2	1,1	0,2
Composés aromatiques (Anthrac ne)	10,0	9,5	0,5	—	—
Groupements fonctionnels					
— COOH	11,2	3,0	0,2	8,0	—
— OH	11,1	—	0,7	10,4	—
— C = O	1,5	—	—	1,5	—
— CH_2O	2,0	0,8	0,2	1,0	—
Sous-total	48,8	18,5	2,6	25,8	1,9
Composés aliphatiques .. ($-C_6H_{12}-$)	3,6	3,1	0,5	—	—
Phénols (C_6H_5OH)	2,5	1,9	0,1	0,5	—
Total	54,9	23,5	3,2	26,3	1,9
Composition totale moy.	100,0	54,0	5,0	37,0	4,0

0,6. On verra que ce rapport peut dépasser l'unité dans le cas de matières organiques très jeunes.

a) **L'azote des acides humiques :**

— **Les formes hydrolysables :**

CHESHIRE **et al.** (1967) décrivent un acide humique type, comme une structure organique complexe, composée d'un nucléus ou « core » polyaromatique, auquel seraient rattachés, par divers types de liaisons, des polysaccharides, des protéines, des phénols simples et des métaux. Les protéines associées aux acides humiques par des liaisons faibles, de type liaison hydrogène, ont pu être isolées sans hydrolyse par SIMONART **et al.** (1967) et par BIEDERBECK et PAUL (1973). Cet azote « humo-protéique » représente environ 8 % de l'azote de l'acide humique, ce qui signifie qu'une majorité de l'azote se trouve sous une forme hétéroprotéique dans ce dernier.

L'azote organique n'est pas réparti de façon homogène dans la structure des molécules humiques : BUTLER et LADD (1969), puis SWIFT et POSNER (1972) mettent en évidence des variations dans la distribution de l'azote, selon la taille des macromolécules. Les plus grosses, qui sont également celles qu'on extrait aux pH les plus élevés, ont des teneurs supérieures en azote.

En fait, la variabilité des compositions selon l'origine des matériaux est frappante : FELBECK (1971) a reconstitué 54 % d'un acide humique « moyen » (tableau 1) d'après le dosage de différents groupements fonctionnels : les groupements azotés identifiés, amino-acides et osamines, représentent environ 50 % de l'azote humique, soit une prédominance très nette de l'azote α-aminé.

ANDREUX (1978) mesure des taux d'azote hydrolysable d'acides humiques de diverses origines, allant de 69 à 93 % de l'azote total, dont 50 à 80 % d'azote α-aminé et ammoniacal. La figure V montre que la teneur en **azote non identifié** varie dans le

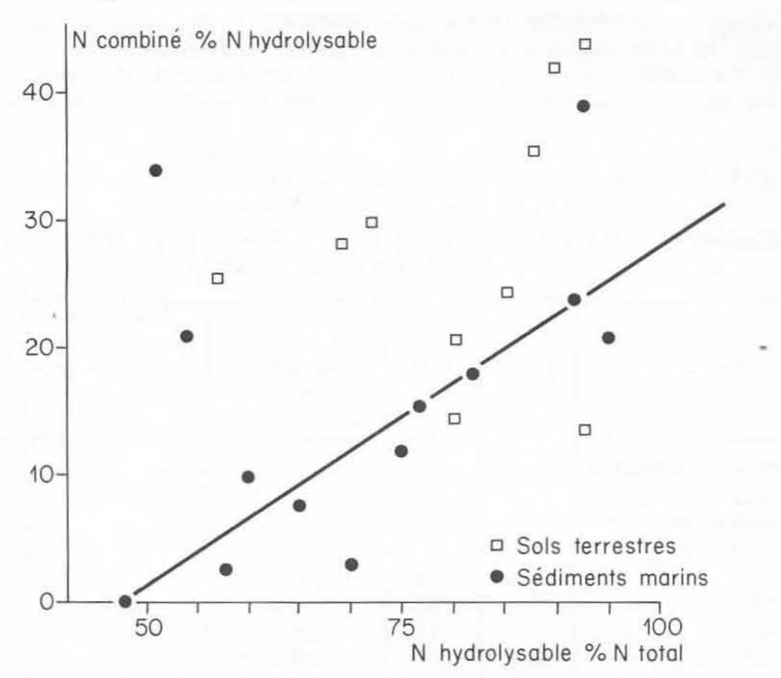


FIGURE V. — *Relation entre le taux d'azote hydrolysable d'acides humiques et le taux d'azote non identifié dans les hydrolysats (N combiné = N non identifié)*
Relation between the rate of hydrolysable Nitrogen of humic acids and the rate of non identified Nitrogen in their hydrolysates

même sens que l'azote hydrolysable ; à la limite, les acides humiques les plus stables ne donnent par hydrolyse acide que de l'azote α-aminé et ammoniacal. Tout se passe comme si la résistance à l'hydrolyse s'accompagnait d'une incorporation des combinaisons complexes non identifiées dans le nucleus polycondensé des acides humiques.

Par des méthodes de fractionnement sur gel échangeur d'ions, nous avons tenté de séparer les constituants des hydrolysats d'acides humiques (ANDREUX **et al.**, 1981). Une hydrolyse courte (1 heure) solubilise 80 % de l'azote d'un acide humique de rendzine. Cet azote se répartit en quatre fractions très distinctes, comme le montre le tableau 2 :

— Une fraction (I) de fort encombrement moléculaire , à C/N relativement élevé, très aromatique (absorbant à 280 nm), dont l'azote est entièrement sous forme aminée ou ammoniacale après hydrolyse ;

— Une fraction (II) retenue par le gel, donc plus petite, mais éluée à pH bas, donc anionique, qui contient l'azote des combinaisons complexes et des ramifications peptidiques ;

— Une fraction (III) retenue, anionique et de plus petite taille, à caractère très azoté, dont la plus grande partie (17 % de l'azote total) est sous forme **non identifiée ;**

— Une fraction (IV) à caractère basique prononcé, qui correspond à des peptides non décomposés et auxquels participent des amino-acides à fonction non α-aminées. L'ammoniaque formé au cours de l'hydrolyse se trouve dans cette fraction, ce qui explique le C/N très bas, en dehors de la moyenne des composés protéiques.

Ce mode de fractionnement permet donc de concentrer les formes d'azote non protéique, de les quantifier et d'isoler des fractions basiques à structure peptidique.

— Les formes non hydrolysables :

RIFFALDI et SCHNITZER (1973), puis ANDREUX (1978) montrent que l'abondance de l'azote humique résistant à l'hydrolyse diffère notablement selon le sol d'origine. Pour un chernozem, le taux d'azote résistant peut varier de 15 à 30 % de l'azote humique total. Les valeurs les plus habituelles se situent entre 7 et 15 % pour la plupart des sols.

TABLEAU 2. — *Répartition des formes de l'azote dans un acide humique de rendzine. D'après ANDREUX* et al. (1981)

Distribution of the forms of Nitrogen in a humic acid from a rendzina soil. After ANDREUX et al. (1981)

Fractions	N total % (*)	C/N	N α-aminé + ammoniacal % (*)	N α-aminé + ammoniacal (près hydrolyse 24 h) + (*)	N combiné % (*)
Fraction hydrolysable (charge anionique et volume moléculaire décroissants)					
I	3,6	15,8	tr.	3,2	tr.
II	27,6	8,3	14,3	23,8	3,8
III	27,7	3,1	6,8	11,1	16,6
IV	20,5	1,7	6,1	17,6	2,9
Fraction non hydrolysable	20,4	14,1	—	—	20,4

(*) En % de l'azote total de l'acide humique — teneur en N = 3,7 %

En résumé, l'azote des acides humiques peut se séparer en :

— **Azote protéique**, faiblement associé (humo-protéines) ;

— **Azote aminé ou peptidique**, lié plus étroitement au nucléus polycondensé (plus ou moins facilement hydrolysable) ;

— **Azote non identifié**, assimilé à des fonctions juxta-nucléaires des polyphénols, ou à d'autres combinaisons complexes encore indéterminées, hydrolysables ;

— **Azote « résiduel »**, non hydrolysable, dont la nature diffère structuralement des hétérocycles.

Le débat reste donc ouvert, et le fractionnement des substances hydrolysables semble le point de départ d'une amélioration de nos connaissances.

b) **L'azote des acides fulviques :**

Dans le bilan quantitatif que nous avons tenté de réaliser, l'azote fulvique apparaît comme **la fraction minoritaire des sols à l'équilibre.** La distribution de l'azote au cours de l'humification est, en effet, sujette à variations. Les produits azotés jeunes, issus de la biomasse, appartiennent principalement à des petites molécules classées comme composés fulviques. La conservation de ces formes d'azote, très labiles, n'apparaît que dans certains environnements minéraux (sols carbonatés par exemple).

La stabilité chimique des composés azotés fulviques est faible : l'hydrolyse acide détruit partiellement les structures organiques, puisque près de 30 % de l'azote fulvique passe alors sous forme ammoniacale (BATZULA et KRUPSKIY, 1974).

SEQUI et ses collaborateurs (1975) ont essayé de caractériser les acides fulviques de différents sols par chromatographie sur gel de polyamide (figure VI). Nous en retiendrons les principaux résultats concernant la distribution de l'azote :

— **L'azote aminé,** moins abondant que dans les acides humiques, n'atteint pas 50 % du total ; les proportions les plus basses caractérisent les acides fulviques des milieux podzoliques, les plus hautes celles des milieux carbonatés (SEQUI **et al.**, 1975) ;

— **L'azote des hexosamines,** qui reste, comme nous l'avons vu, en majeure partie dans l'humine, apparaît cependant proportionnellement plus abondant dans les acides fulviques de l'horizon A_1 de podzol (sans doute en relation avec l'abondance de matériel fongique) ;

— Enfin, **les combinaisons complexes** dépassent généralement 40 % de l'azote fulvique et atteignent les valeurs maxima en milieu podzolique.

Ainsi, les structures azotées, protéiques ou complexes, se répartissent inégalement dans les compartiments classiques de la matière organique humifiée.

Les substances protéiques ou dérivées de macromolécules biologiques sont associées de préférence aux édifices les plus importants : humine, puis acides humiques.

Inversement, les combinaisons azotées résultant de synthèses proprement humiques, encore structuralement mal définies, caractérisent les fractions acido-solubles : acides fulviques, hydrolysats d'acides humiques.

Les variations dans ces distributions semblent liées aux processus d'humification biologique, et aux caractéristiques de la phase minérale. C'est pourquoi nous envisagerons en dernier ressort quelques aspects de la dynamique des processus qui affectent les différentes formes d'azote organique sous l'influence de l'activité biologique, en distinguant l'azote « protéique » et l'azote de réorganisation humique.

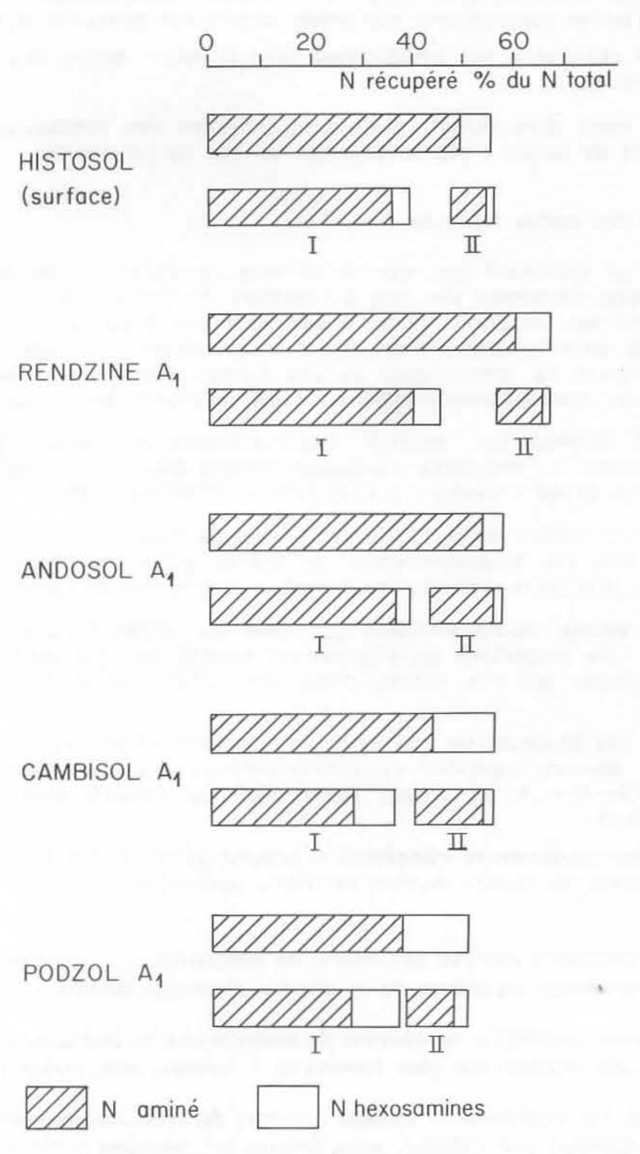


FIGURE VI. — *Distribution des amino-acides et des osamines dans les acides fulviques avant et après chromatographie sur gel de Polyamide (I et II correspondent aux fractions éluées respectivement en milieu acide et alcalin). D'après SEQUI* et al. (1975)

Distribution of amino-acids and osamines in the fulvic acids before and after chromatography on polyamide gel (I and II *are the fractions eluated in acidic and alkaline medium, respectively*). *After SEQUI* et al. (1975)

APPROCHE DE LA DYNAMIQUE DE L'AZOTE ORGANIQUE DANS LES SOLS.

A. — SCHEMA GENERAL DE L'EVOLUTION DE L'AZOTE ORGANIQUE (figure VII).

Nous avons pris, pour illustrer le schéma général de l'évolution de l'azote organique sous ses différentes formes, une expérience de KAI (1975). Au cours d'une incubation, l'azote est introduit sous formes de $^{15}NO_3$— dans un sol de culture, enrichi en glucose ou en paille. La distribution initiale de l'azote du sol concorde avec les données caractéristiques d'un sol actif : 20 % de non hydrolysable, 38 % d'α-aminé, 10 % d'hexosamine, et environ 15 % d'azote hydrolysable non identifié.

L'azote minéral, promptement assimilé par les micro-organismes, contribue immédiatement à la formation d'azote organique : avec un substrat très facilement utilisable comme le glucose, la production d'azote α-aminé (synthèse de protéines) et d'hexosamines (synthèse de matériel pariétal) est importante, et atteint son maximum en quelques jours. Dans le même temps, plus de 25 % de l'azote s'incorporent à des combinaisons complexes non identifiées.

La minéralisation des différentes formes d'azote organique résultant de ces processus de réorganisation se traduit par la diminution de l'azote α-aminé, premier atteint par la biodégradation, puis des combinaisons complexes. La résistance des hexosamines et de l'azote non hydrolysable diffère leur dégradation, qui intervient dans un délai postérieur à 8 semaines pour le résidu d'hydrolyse.

Lorsque des substrats moins accessibles, comme la paille ou la cellulose, sont associés à la réorganisation de l'azote nitrique, les étapes se succèdent de la même manière, mais avec une vitesse moindre. Des résultat analogues avaient été suggérés par GALLALI **et al.** (1972).

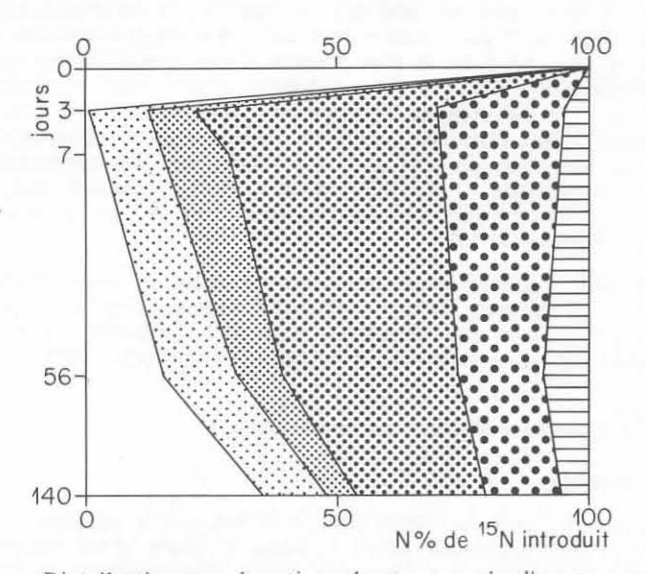


FIGURE VII. — *Distribution en fonction du temps, de l'azote provenant d'un apport de $^{15}NO_3$—, dans les fractions azotées d'un sol de culture (voir légende figure VIII). D'après KAI (1975)*

Time depending distribution of Nitrogen originating from a $^{15}NO_3$— enrichment, among the fractions of a cultivated soil (see caption in figure VIII). After KAI (1975)

Cet exemple, dans lequel les données biologiques complètent les informations du fractionnement chimique, montre l'importance de l'identification et la quantification des différentes formes d'azote organique.

Les résultats de l'expérimentation de KAI confirment l'existence de deux types de structures organiques, parmi les produits de réorganisation microbienne de l'azote :

— Les unes, majoritaires, essentiellement protéiques, dont le taux de minéralisation est le plus élevé ;

— Les autres, à caractère complexe, semblent caractéristiques de l'évolution de la biomasse microbienne en milieu actif. CHU et KNOWLES (1966) ont montré en effet que l'introduction de corps microbiens dans un sol de culture (figure VIII) avait pour conséquence immédiate la production d'**azote hydrolysable non identifié** (« Acid-soluble humin N »), alors que ce phénomène n'apparaît pas dans les humus bruts (où il est remplacé par la formation d'azote non hydrolysable et d'azote ammoniacal).

Enfin, la réorganisation de l'azote minéral peut se faire dans des structures biologiquement plus stables : hexosamines et substances non hydrolysables, mais ces composés restent quantitativement minoritaires par rapport aux deux groupes précédents.

B. — EVOLUTION DES PRINCIPALES FORMES D'AZOTE ORGANIQUE.

Parmi les différentes formes organiques de l'azote du sol, les expérimentateurs ont choisi d'une part des biomolécules simples et, d'autre part, des associations plus complexes, soit organiques (débris végétaux ou microbiens, molécules humiques), soit organo-minérales.

1. L'azote des amino-acides :

D'après MULLER (1977), la cinétique d'ammonification d'un mélange d'amino-acides et de protéines met en évidence la rapidité de décomposition des substrats azotés simples, plus de 30 fois supérieure à celle des macromolécules. La désamination des amino-acides, accompagnée le plus souvent d'une minéralisation complète, apparaît en effet particulièrement intense : pour SMITH (1979), une population de sol actif (10^{10} bactéries x g^{-1}) est capable de produire, à partir d'amino-acides, 120 µg d'azote minéral par heure. Même dans des conditions favorables à la conservation de la matière organique (dans les sols calcaires ou hyperalumineux), les amino-acides libres sont immédiatement minéralisés : BOUDOT **et al.** (1980) indiquent que l'azote minéral produit après introduction d'un amino-acide libre dans un sol alumineux est ensuite réorganisé (voir schéma de KAI).

L'apport d'azote organique sous forme simple dans un sol actif équivaut, en fait, à un apport d'azote minéral, ce qui explique d'absence quasi générale d'amino-acides libres dans la plupart des sols (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970), sauf dans des conditions climatiques exceptionnelles (LABROUE et CARLES, 1977).

2. L'azote de la biomasse végétale ou microbienne :

a) Débris végétaux :

On sait que l'évolution de l'azote organique des débris végétaux dans le sol varie considérablement, non seulement selon l'espèce végétale, mais également selon l'organe ou le tissu et même selon l'âge des tissus. Généralement, la biodégradation de l'azote organique végétal est d'autant plus intense que le matériau est finement divisé (SIMS et FREDERICK, 1970).

D'après BROADBENT et NAKASHIMA (1974), la minéralisation de l'azote des racines d'orge n'atteint pas 5 % en 4 mois, alors qu'elle dépasse 25 % pour les parties

aériennes. Dans le même temps, la minéralisation de l'azote d'une légumineuse herbacée (« Medicago littoralis ») approche 40 % ; une fraction très minoritaire de l'azote stabilisé appartient aux débris végétaux non dégradés (2,8 %), alors que plus de 23 % se trouvent dans la biomasse des micro-organismes décomposeurs (AMATO et LADD, 1980).

b) **Corps microbiens :**

Que l'azote provienne d'apports minéraux (nitrate et ammoniaque) ou végétaux, il est en grande partie réorganisé et immobilisé dans la biomasse bactérienne, qui constitue ainsi une étape majeure de l'évolution de l'azote organique.

D'après JENSEN (1932), une partie de l'azote du matériel cellulaire est minéralisée dans des proportions extrêmement variables selon les conditions de milieu. La fraction stabilisée contribuerait essentiellement à la formation d'humine.

CHU et KNOWLES (1966) ont effectué une expérience de dégradation tout à fait analogue à celle de KAI, en introduisant des cellules de « Pseudomonas aeruginosa » marquées ^{15}N, dans un sol arable (figure VIII). La distribution initiale de l'azote microbien fait apparaître, dès la phase de contact avec le sol, une proportion notable

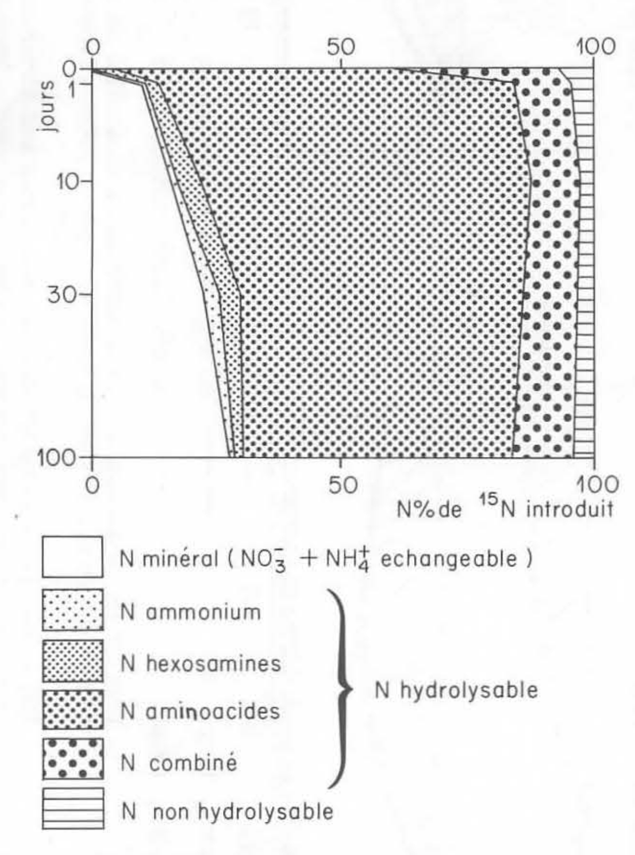


FIGURE VIII. — *Distribution de l'azote provenant d'un apport de cellules microbiennes marquées ^{15}N, au cours de l'incubation d'un sol de culture limono-sableux. D'après CHU et KNOWLES* (1966)

Distribution of Nitrogen proceeding from an enrichment with ^{15}N-labelled microbial cells, during incubation of a sandy-loam cultivated soil. After CHU and KNOWLES (1966)

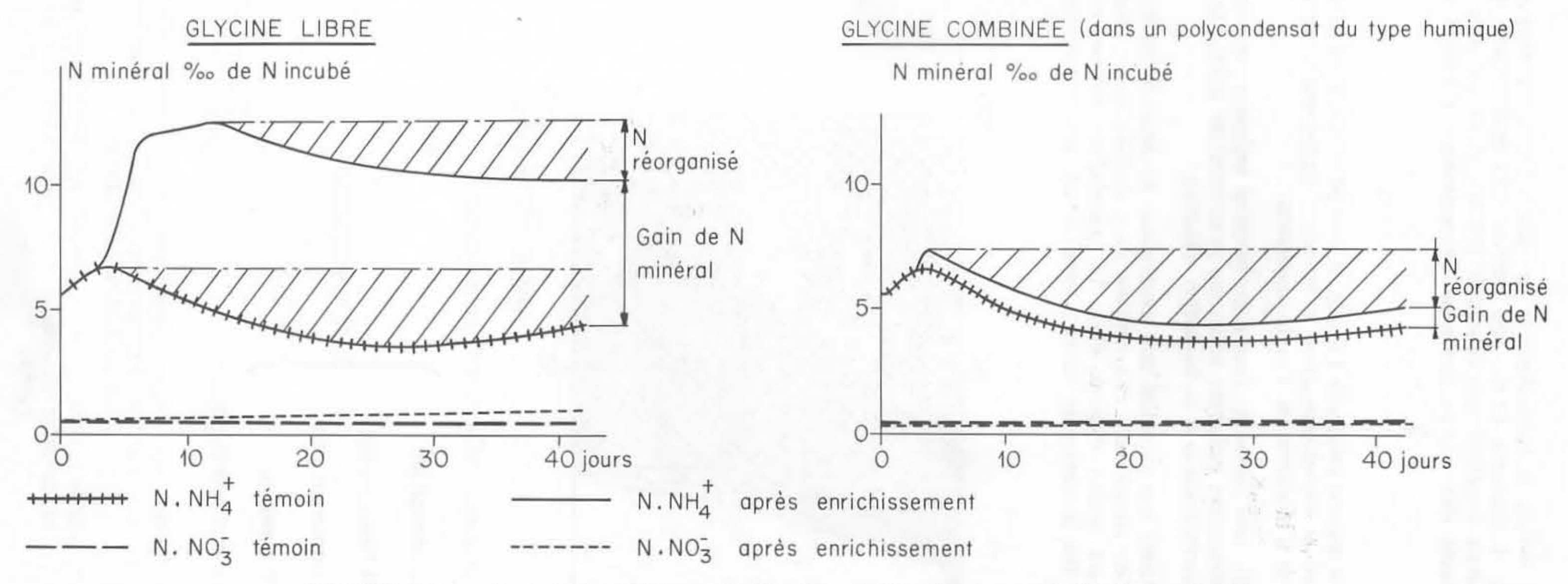


FIGURE IX. — *Ammonification et nitrification nettes dans un sol alumineux humifère enrichi en glycine libre ou combinée dans un polycondensat. D'après* ANDREUX et al. (1981)

Net ammonification and nitrification in a humus and Al-rich soil, after enrichment with free glycine and glycine combined in a polycondensate. After ANDREUX et al. (1981)

d'azote combiné hydrolysable (32 % de l'azote introduit) et d'azote non hydrolysable (6,6 %), alors que les amino-sucres restent très minoritaires.

L'évolution ultérieure montre d'abord le passage d'une partie de l'azote non identifié et de l'azote non hydrolysable dans le compartiment des amino-acides, puis une minéralisation croissante aux dépens de l'azote aminé et des osamines. Les combinaisons complexes, hydrolysables ou non, tendent à s'accumuler peu à peu.

On notera que, dans cette expérience, le sol utilisé ne contient pas d'argile, et que les transformations de l'azote organique en sont affectées : moindre conservation des osamines, diminution du taux d'azote combiné et d'azote non hydrolysable. Pour LADD **et al.**(1981), les sols les plus argileux retiennent généralement de plus fortes proportions d'azote sous forme de biomasse bactérienne, sans que la minéralisation globale de cette forme d'azote soit pour autant plus lente.

3. L'azote des molécules humiques :

Nous avons vu que l'azote des composés humiques pouvait être rattaché en partie à l'azote protéique ou à des peptides. L'accessibilité de ces structures à la biodégradation est abaissée en raison de leur association avec les polycondensats humiques. VERMA **et al.** (1975), puis ANDREUX **et al.** (1977), ont remarqué que l'amino-acide N-terminal des peptides complexés par des polymères humiques offrait le maximum de résistance à la minéralisation, donc à la réorganisation par la microflore.

Le comportement de l'azote du polycondensat catéchol-glycine (**figure IX**), dont on a suivi la minéralisation et la stabilisation dans un sol humifère où la réorganisation de l'azote est très active (ANDREUX **et al.**, 1981). La glycine ainsi stabilisée est beaucoup moins biodégradable que la glycine libre, le gain d'azote minéral est insignifiant, et la courbe de minéralisation nette de l'azote est immédiatement parallèle à celle du témoin. Ceci suggère que, dans ce type de sol, l'azote organique est stabilisé sous une forme proche des combinaisons polyphénols-amino-acides.

4. L'azote des associations organo-minérales :

L'affinité de la fraction azotée de la matière organique des sols pour certains supports minéraux est considérée depuis longtemps comme un des facteurs principaux de la rétention de l'azote organique (MATTSON, 1932).

a) Molécules simples :

Pour des substrats très biodégradables comme les amino-acides, l'adsorption sur une phase minérale peut amener un ralentissement de la minéralisation de l'azote, mais, dans ce domaine, la polarité de la surface minérale et le pH du milieu jouent un rôle important. JOCTEUR MONROZIER **et al.** (1981) ont étudié l'adsorption de l'alanine sur divers supports silico-alumineux, en milieu acide, et ont observé que l'association avec la montmorillonite (surface négative plus ou moins recouverte de cations, protons et ions complexes de l'aluminium) ne limitait pratiquement pas la minéralisation de l'amino-acide, alors que l'association avec un gel silico-alumineux (surface positive) inhibait la biodégradation des composés organiques azotés dont près de 50 % demeuraient liés au support minéral (figure X).

Par conséquent, les argiles ne semblent pas jouer un rôle protecteur particulier sur les **molécules azotées simples**, alors qu'en milieu acide, les surfaces des gels électropositifs peuvent, tout comme les carbonates en milieu alcalin, ralentir leur évolution. Les mécanismes en cause sont, soit l'insolubilisation de la molécule, soit une inhibition partielle de l'activité enzymatique des décomposeurs (ZWARUN et THOMAS, 1973).

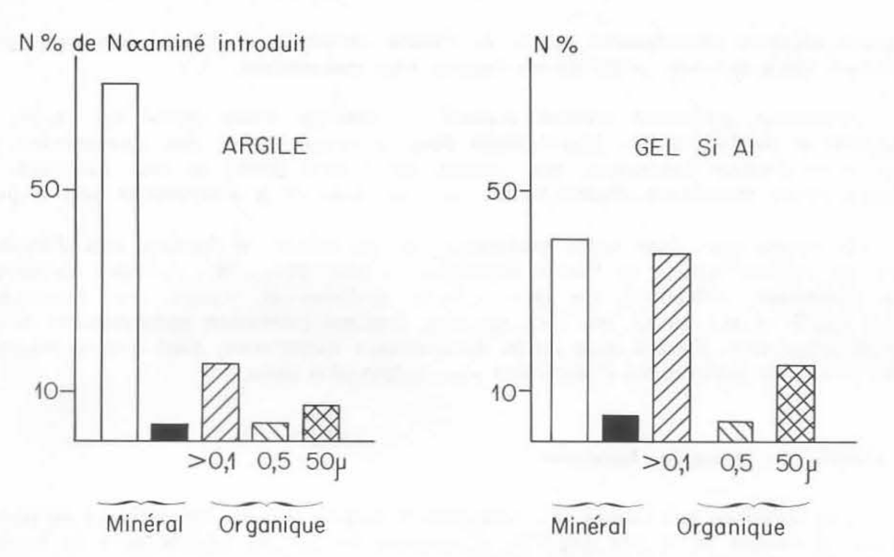


FIGURE X. — *Distribution de l'azote après biodégradation de l'alanine adsorbée sur une montmorillonite (H, Al) et sur un gel silico-alumineux. D'après JOCTEUR MONROZIER* et al. (1981)

Distribution of Nitrogen after biodegradation of alanine adsorbed on a (H, Al) montmorillonite and on a silico-aluminous gel. After JOCTEUR MONROZIER et al. (1981)

b) **Molécules complexes :**

Dans le cas de **macromolécules protéiques,** protéines libres ou fraction peptidique des composés humiques, l'adsorption sur les matériaux argileux est en relation avec la C.E.C. de l'argile : une argile comme la montmorillonite s'avère très efficace et inhibe même la protéolyse, alors que la kaolinite n'a pratiquement aucun effet (ENSMINGER et GIESEKING, 1942). De même, SCHARPENSEEL et KRUSE (1972) ont souligné le rôle particulier des amino-acides dans la liaison acide humique-argile, qui renforce encore la stabilisation de l'azote organique, associé aux composés humiques.

Par ailleurs, McGILL et PAUL (1976) ont montré que la majeure partie de l'azote aminé, synthétisé lors de la biodégradation des tissus végétaux, s'associait avec les argiles les plus fines (inférieures à 0,04 µm) par l'intermédiaire des sesquioxydes. Ces auteurs soulignent que cette fraction de l'azote organique ne présente pas de récalcitrance particulière aux biodégradations ultérieures. L'azote inclus dans des particules plus grossières (supérieures à 0,2 µ) se montre plus stable, soit parce qu'il appartient à des débris figurés (végétaux et microbiens), soit parce qu'il entre dans la constitution des ciments humiques.

La distribution granulométrique de l'azote organique reflète également les aptitudes évolutives des différentes fractions azotées : CHICHESTER (1970), TATE et CHURMCHAN (1978), puis TURCHENECK et OADES (1979), YOUNG et SPYCHER (1979), notamment, ont mis en évidence la concentration d'azote organique dans les matériaux colloïdaux, agrégés ou dispersés, de la plupart des sols biologiquement actifs. Dans les sols à forte redistribution de particules argileuses, il semble, au contraire, que les colloïdes les plus fins (inférieurs à 0,1 µm) s'appauvrissent en azote. CHICHESTER (1970) montre par ailleurs que les potentialités de minéralisation des substances azotées s'accroissent lorsque décroît la taille des particules. Les particules grossières (supérieures à 5 µm), débris figurés ou agrégats organo-minéraux, présenteraient donc une résistantce accrue à la biodégradation.

Il apparaît donc que la dynamique de l'azote organique dépend non seulement des composés organiques, biomolécules simples ou substances humiques complexes, mais également des interactions entre ces composants organiques et la phase minérale, dont la nature et les propriétés de surface sont elles-mêmes extrêmement variables selon le type de sol. Les paramètres physiques du sol, et notamment l'état d'agrégation, jouent également un rôle important : ainsi, l'évolution de l'azote pourra suivre des itinéraires différents selon que les associations organo-minérales appartiennent à des particules grossières ou au contraire aux fractions les plus dispersables du sol.

CONCLUSION ET RESUME.

L'azote organique des sols regroupe des entités biochimiques et biologiques associées à des combinaisons complexes, produits de la synthèse humique.

— L'analyse et l'identification des différentes structures dépendent de méthodes d'extraction qui restent encore très globales : d'une part, l'hydrolyse acide fait apparaître une participation dominante d'**amino-acides** et d'**azote non identifié.** Les **osamines** et la **fraction non hydrolysable** de l'azote organique sont en proportions généralement beaucoup plus faibles. D'autre part, l'extraction alcaline s'avère peu efficace dans la solubilisation des composés organiques azotés ; cependant, il semble que dans la plupart des cas, les combinaisons complexes soient en majeure partie dans les extraits humiques, alors que les protéines et les amino-polysaccharides sont concentrés dans l'humine. Le fractionnement chromatographique d'hydrolysats d'acides humiques permet alors de séparer l'azote organique combiné, associé à des polycondensats aromatiques, des entités biochimiques, amino-acides et peptides.

— D'un point de vue dynamique, le degré d'organisation des matériaux azotés influe sur la biodégradabilité, tout autant que la nature biochimique des constituants : l'azote d'un amino-acide isolé est plus accessible que celui d'un amino-acide engagé dans une protéine et, **a fortiori,** que l'azote des amino-acides, qui appartiennent aux structures pariétales de la biomasse. Cependant, il s'avère que l'azote des combinaisons complexes humiques peut trouver son origine dans les synthèses microbiennes des sols actifs : sa production et sa conservation sont déterminées en grande partie par les conditions de milieu, c'est-à-dire par la teneur en argile et la fourniture d substrats carbonés assimilables. L'azote des modèles polyphénols-amino-acides paraît alors représenter une des formes les plus résistantes de l'azote combiné, qui s'apparente à celui des sols humifères.

— Enfin, on ne peut envisager une quantification des formes de l'azote organique sans aborder les relations entre les composés azotés et la phase minérale : les informations les plus exploitables nous sont fournies par la distribution granulométrique des associations organo-minérales. Une sélection naturelle associe de préférence les fractions azotées simples avec les surfaces des colloïdes minéraux les plus fins, alors que les structures biologiques plus organisées appartiennent aux agrégats plus grossiers et plus stables. Les combinaisons azotées les plus résistantes se trouveraient alors dans les composés humiques cimentant le particules.

En résumé, l'immobilisation de l'azote des sols sous forme organique se trouve être un des problèmes-clés de l'humification : elle correspond d'une part à la stabilisation de biomolécules, d'autre part à la production de molécules nouvelles caractéristiques des composés humiques. La détermination des formes de l'azote organique permet non seulement d'apprécier les possibilités de minéralisation, mais encore de comprendre l'origine de la stabilisation de l'azote (structurale, physico-chimique, biologique), et, par conséquent, de prévoir, dans une certaine mesure, l'évolution des matières organiques apportées au sol.

SUMMARY

ORGANIC NITROGEN IN SOILS

Soil organic Nitrogen has a complex origin, and is included in a large variety of specific or non specific materials, such as biochemical molecules, plant and animal residues, microbial bodies, and undetermined combinations proceeding from the chemical and biological synthesis of humic compounds.

— The analysis and the identification of the Nitrogen Structures depend at first on the extraction methods, which are not generally very specific: acid hydrolysis, the most common method, shows a predominant contribution of amino-acids and of non-identified forms, called «unknown Nitrogen». Osamines and non-hydrolysable Nitrogen are generally less abundant. Alkaline extraction is less efficient than acid hydrolysis for the solubilization of nitrogen compounds. However, in many cases, the combined Nitrogen forms seem to be more abundant in the humic extracts, than in the non extractable humin fraction, where proteins and amino-polysaccharides are concentrated. Chromatographic fractionation of humic acid hydrolysates allows to separate the simple fraction of peptidic and protein compounds, and the combined organic Nitrogen, which is associated with aromatic polycondensates.

— From a dynamic point of view, the complexity of the Nitrogen organic structures affects its biodegradation: Nitrogen of a simple amino-acid is more available for the microorganisms than Nitrogen of the same amino-acid included in a protein, or, all the more reason, in the wall structures of these microorganisms. However, in the active soils, Nitrogen is also included in complex humic molecules synthetized by microorganisms. In that case, its conservation in soil is determined in a great part by the medium conditions, i.e. clay content, availability of organic substrates, etc. Nitrogen of the polyphenol-amino acid humic-like polycondensates seems to represente one of the most resistant forms of the combined Nitrogen, and is probably similar to the resistant Nitrogen forms of humic soils.

— Measurements of the different forms of organic Nitrogen must take into account the nature of the interactions between Nitrogen compounds and soil mineral phases: the most available date are obtained from the determination of the grain-size distribution of the organo-mineral associations. The less stable organic Nitrogen fractions are preferentially associated to the finest mineral colloids, whereas the most organized and biological structures are included in coarser and more stable aggregates. The most resistant Nitrogen seems to be present in the humic cementing agents of these aggregates.

In short, the immobilization of Nitrogen under organic form in soils is one of the main problems of the humification process. It is related, on the one hand, to the stabilization of biomolecules and, on the other hand, to the neosynthesis of humic molecules. The determination of the forms of organic Nitrogen not only leads to the evaluation of the mineralization potential of soil organic matter; in addition, it allows to understand the origin of the stabilization of organic Nitrogen (for example structural, physico-chemical and biological stabilization), and to foresee, in a certain extent, the evolution of the organic matter added to the soil.

Bibliographie

ALDAG R. et KICKUTH R. (1973). — **Zeitsch. Pflanzenern. Bodenkde, 136** (3), 193-202.

ALEXANDER M. (1965). — **Advances in Applied Microbiology, vol. 7,** 35-80.

ALLISON F.E. (1973). — Soil organic matter and its role in crop production. Developments in Soil Science, n° 3, 637 p., Elsevier Publ.

AMATO M. et LADD J.N. (1980). — **Soil Biol. Biochem., 12,** 405-411.

ANDREUX F., GOLEBIOWSKA Dorota, CHONE Thérèse, JACQUIN F. et METCHE M. (1977). — In : **Soil Organic Matter Studies. I.A.E.A. Vienne, II,** 43-57.

ANDREUX F. (1978). — Etude des étapes initiales de la stabilisation physico-chimique et biologique d'acides humiques modèles. Thèse Doct. Etat, Univ. Nancy I, 174 p. + annexes.

ANDREUX F. et CHONE Thérèse (1979) : **In** : Studies about Humus. Trans. Int. Symp. « Humus et Planta VII », Brno, Tchécoslovaquie, 215-220.

ANDREUX F. et CORREA Adela (1981). — **In** : C.R. Coll. Int. C.N.R.S. n° 303 « Migrations organo-minérales dans les sols tempérés, 329-339.

ANDREUX F., PORTAL J.-M., NGUYEN QUAT HAO et JOCTEUR MONROZIER Lucile (1981). — Essai de fractionnement sur dextranes échangeurs d'ions de polycondensats naturels azotés (acides humiques et tannins). **In** : C.R. Journées Int. Etudes du Groupe Polyphénols, Neuchâtel (Suisse), sept. 1980, sous presse.

ANDREUX F., BOUDOT J.-P., CHONE Thérèse et GUENIOT B. (1981). — Biodégradation expérimentale de la glycine libre ou combinée dans deux sols de pelouse subalpine primaire des Hautes-Vosges (en préparation).

ASAMI T. et HARA M. (1970). — **J. Sci. Soil Manure** (Japan), **41** (12), 487-490. Résumé in : **Sols Fertil.,** 1973, **36** (5), n° 1517.

BATZULA A.A. et KRUPSKIY N.K. (1974). — **Pochvovedeniye, 8,** 34-40.

BIEDERBECK V.O. et PAUL E.A. (1973). — **Soil Science, 115** (5), 357-366.

BOUDOT J.-P., CHONE Thérèse et GUENIOT B. (1980). — **Bull. A.F.E.S., Science du Sol, 2,** 113-126.

BREMNER J.M. et LEES H. (1949). — **J. Agric. Science, 39,** 274-279.

BREMNER J.M. (1965). — Organic nitrogen in soils. **In** : Soil Nitrogen, 93-149. Bartholomew et Clark Ed. Amer. Soc. Agron. Pub., n° 10, 615 p.

BREMNER J.M. (1967). — Nitrogenous compounds. **In** : Soil Biochemistry. T. I. McLaren et Peterson, éd., 508 p. Marcel Dekker Inc. Publ.

BROADBENT F.E. et NAKASHIMA T. (1974). — **Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 38,** 313-315.

BUTLER J.H.A. et LADD (1969). — **Austral. J. Soil Research, 7,** 229-239.

CHESCHIRE M.V., CRANWELL P.A., FALSHAW C.P., FLOYD A.J. et HAWORTH R.D. (1967). — **Tetrahedron, 23,** 1669-1682.

CHICHESTER F.W. (1970). — **Plant and Soil, 33,** 437-456.

CHU J.P.H. et KNOWLES R. (1966). — **Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 30** (2), 210-213.

DECAU J. (1968). — **Ann. Agron., 19** (6), 653-683.

DELECOUR F. (1975). — **Pédologie, Gand, XXV,** 2, 118-125.

DOMMERGUES Y. et MANGENOT F. (1970). — Ecologie microbienne des sols. Masson, Paris, 796 p.

ELLENBERG H. (1977). — **Oecol. Plant,** 12 (1), 1-22.

ENSMINGER L.E. et GIESEKING J.E. (1942). — **Soil Science, 53,** 205-209.

FELBECK G.T. Jr. (1971). — **Soil Science, 111** (1), 42-48.

FLAIG W. (1970). — **Science du Sol, Bull. A.F.E.S., 2,** 39-72.

FLEIGE H., MEYER B. et SCHOLZ H. (1971). — **Göttinger Bodenk. Berichte, 18,** 1-37.

GALLALI T., GUCKERT A. et JACQUIN F. (1972). — **Bull. E.N.S.A.I.A., 15** (2), 207-219.

GOH K.M. et EDMEADES D.C. (1979). — **Soil Biol. Biochem., 11,** 127-132.

GREENFIELD L.G. (1972). — **Plant and Soil, 36,** 191-198.

GUIDI G., PETRUZELLI G. et SEQUI P. (1976). — **Canad. J. Soil Science, 56,** 159-166.

HAIDER K. FREDERICK L.R. et FLAIG W. (1965) **Plant and Soil, 22,** 49-64.

JAMES L.B. (1972). — **J. of Chromatography, 68,** 123-130.

JANEL Ph. (1978). — Etude saisonnière des formes de l'azote organique dans trois types d'humus sous hêtraie : moder, mull acide, mull calcaire. Thèse Doct. Spéc., Univ. Nancy I, 63 p.

JANEL Ph., JOCTEUR MONROZIER Lucile et TOUTAIN F. (1979). — **Soil Biol. Biochem. 11,** 141-146.

JENSEN H.L. (1932). — **J. Agric. Scientists, 22,** 1-22.

JOCTEUR MONROZIER Lucile, BARTOLI F. et CHONE Thérèse (1981). — Biodégradation et stabilisation d'un amino-acide doublement marqué ^{15}N-^{14}C adsorbé sur différents supports silico-alumineux en milieu acide. A paraître.

KAI H. (1975). — The immobilization and release of nitrogen in soil and the chemical caracteristics of nitrogen in those processes. J.I.P.B. Synthesis, vol. 12, Nitrogen fixation and nitrogen cycle, 95-105. Univ. of Tokyo Presse Publ., 161 p.

KICKUTH R., MEYER B. et SCHONLAU H.J. (1969). — **Göttinger Bodenk. Berichte, 8,** 1-61.

LABROUE L. et CARLES J. (1977). — **Oecol. Plant., 12** (1), 55-57.

LADD J.N., OADES J.M. et AMATO M. (1981). — **Soil Biol. Biochem, 13,** 119-126.

McGILL W.B., SHIELDS J.A. et PAUL E.A. (1975). — Soil Biol. Biochem., 7, 57-63.
McGILL W.B. et PAUL E.A. (1976). — **Cand. J. Soil Science, 56,** 203-212.
MATTSON S. (1932). — **Soil Science, 33,** 41-72.
METCHE M. et ANDREUX F. (1974). — **C.R. Acad. Sc. Paris, 279 D,** 1035-1038.
MULLER J.-C. (1977). — **Ann. Agron., 20,** 95-111.
NGUYEN KHA (1972). — **Bull. E.N.S.A.I.A., XIV** (1), 57-63.
OGNER G. (1970). — **Soil Science, 109** (5), 289-293.
OTTOW J.C.G. (1978). — **Naturwissenschaften, 65,** 413-423. Springer Verlag.
PARASHER C.P. et LOWE (1970). — **Cand. J. Soil Sci., 50,** 403-407.
PARSONS J.W. et TINSLEY J. (1975). — Nitrogenous substances. Soils Components, vol. 1 : Organic components, 263-304. Gieseking J.E. éd., Springer Verlag, Berlin, Publ., 534 p.
PIPER T.J. et POSNER A.M. (1972). — **Plant and Soil, 36,** 595-598.
RIFFALDI R. et SCHNITZER M. (1973). — **Soil Science, 115** (5), 349-356.
SCHARPENSEEL H.W. et KRUSE E. (1972). — Amino-acids in clay-humic acid complex formation. IAEA Isotopes and radiation in soil-plant relationships including forestry. Symp. Proc., Vienna, Austria, 193-210.
SCHNITZER M. et HINDLE D.A. (1981). — **Plant and Soil** 60, 237-243.
SEQUI P., GUIDI G. et PETRUZELLI G. (1975). — **Cand. J. Soil Science, 55,** 439-445
SIESKIND O. (1962). — Contribution à l'étude des interactions argiles-matière organique. Adsorption des acides aminés par la montmorillonite. Mém. n° 22, Serv. Carte Géol. Als.-Lorraine, 90 p.
SIMONART P., BATISTIC L. et MAYAUDON J. (1967). — **Plant and Soil, 27,** 153-161.
SIMS J.L. et FREDERICK L.R. (1970). — **Soil Science, 109 (6),** 355-361.
SMITH O.L. (1979 a). — **Soil Biol. Biochem., 11,** 585-606.
SMITH O.L. (1979 b). — **Soil Biol. Biochem., 11,** 607-618.
SOWDEN F.J. (1968). — **Cand. J. Soil Science, 48,** 331-339.
STEVENSON F.J. (1960). — **Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 24,** 472-477.
SWIFT R.S. et POSNER A.M. (1972). — **J. Soil Science, 23** (1), 50-57.
TATE K.R. et CHURMAN G.J. (1978). — **J. Soil Science, 29,** 331-339.
TURCHENEK L.W. et OADES J.M. (1979). — **Geoderma, 21,** 311-343.
VERMA L., MARTIN J.-P. et HAIDER K. (1975). — **Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 39** (2), 279-284.
VLASSAK K., VERSTRAETEN L.M.J. et LIVENS J. (1969). — **Soil Science, 108** (2), 127-131.
YOUNG J.L. et SPYCHER G. (1979). — **Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 43,** 324-328.
ZWARUM A.A. et THOMAS G.W. (1973). — **Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 37,** 386-387.